

### **BAB III**

#### **METODE PENELITIAN**

##### **A. Metode Review Artikel**

Metode penelitian yang digunakan adalah dengan melakukan review artikel dengan mengumpulkan data atau sumber yang berhubungan dengan validasi metode dan penetapan kadar deksametason dalam jamu pegal linu, menggunakan sumber acuan dari berbagai macam jurnal penelitian yang sejenis. Jurnal yang direview memiliki kriteria jurnal penelitian nasional maupun internasional

##### **B. Informasi Jumlah dan Jenis Artikel**

Jumlah jurnal pendukung untuk review artikel kali ini terdapat 5 jurnal pendukung (1 jurnal nasional terakreditasi SINTA, 3 jurnal nasional pendukung bebas predator dan 1 jurnal internasional pendukung) semuanya merupakan jurnal original atau hasil dari penelitian.

##### **C. Isi Artikel**

###### **1. Artikel Pertama**

Judul Artikel : Analisis Senyawa Golongan Kortikosteroid Sintetik (Dexametason dan Prednison) Dalam Jamu Secara Kromatografi Kinerja Cair Tinggi (KCKT)

Nama Jurnal : Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa

Volume & Halaman : Vol. 2, No. 1, Januari 2012, 1 – 11

Tahun Terbit : 2012

Penerbit : Fakultas MIPA, UNB Bogor

Penulis Artikel : Lilis Sugiarti, Ricson P. Hutagaol dan Tb Achyadi

#### ISI ARTIKEL

Tujuan Penelitian : Menganalisis kandungan senyawa golongan kortikosteroid sintetik deksametason dalam jamu yang beredar di kota Bogor pada bulan Juni tahun 2011

Metode Penelitian :

- a. Desain Penelitian : eksperimental.
- b. Populasi dan Sampel : Sampel diambil dari pasar tradisional Ciawi, Bogor. Sampel yang diambil terdiri dari jamu pegal linu, penambah stamina dan penambah nafsu makan, masing-masing terdiri dari dua merek dan diambil sebanyak dua kali sampling.
- c. Instrumen Penelitian : Peralatan yang digunakan dalam penelitian antara lain yaitu peralatan gelas seperti labu ukur, pipet ukur, botol fase gerak dan gelas piala, neraca analitik Scaltec SBC 31 dengan kapasitas 220 gram, KCKT Shimadzu LC-10AD/Varian 9050, semprit/*syringe*, ultrasonik Branson 5210, shaker IKA-Labortechnik AS1-9 HS 250 basic, sentrifus Hettich EBA 12, penyaring Millipore HATF 0,45  $\mu\text{m}$  dan penyaring Millex Phenex NY 0,45  $\mu\text{m}$ .

d. Metode Analisis :

- 1) Larutan standar deksametason dengan konsentrasi 10 µg/ ml dalam fase gerak (larutan A), larutan standar prednison dengan konsentrasi 10 µg/ ml dalam fase gerak (larutan B), dan larutan standar campuran deksametason dan prednison dengan konsentrasi masing – masing 10 µg/ ml dalam fase gerak (larutan C).
- 2) Larutan deret standar campuran deksametason dan prednison dengan konsentrasi 100 µg/ml dalam 50 ml larutan fase gerak. Larutan sampel diambil secara acak sebanyak 1 gram dalam 100 ml fase gerak, disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, diambil larutan beningnya.
- 3) Sebelum diinjeksikan ke dalam KCKT semua larutan (larutan standar A, standar B, standar C, deret standar dan sampel)disaring dengan penyaring Millex Phenex NY 0,45 µm ke dalam vial 10 ml.
- 4) Sistem kromatografi menggunakan kolom C-18 Agilent ZORBAK RX-C18 4,6 x 250 mm (5µm) SN USCU011907 dengan laju alir 1,2 ml/menit, detektor UV – Vis pada panjang gelombang 244 nm dan volume injeksi 50 µl.
- 5) Cara penetapannya yaitu dengan menginjeksikan larutan standar C sebanyak 5 kali, kemudian respon yang diperoleh direkam dan dilakukan uji kesesuaian sistem.

- 6) Untuk mengetahui waktu retensi deksametason dan prednison diinjeksikan larutan standar A dan larutan standar B. Setelah itu, larutan sampel diinjeksikan dan direkam respon yang diperoleh.
- 7) Sedangkan untuk uji kuantitatif diinjeksikan larutan deret standar. Masing-masing sampel diambil datanya dari tiga ulangan percobaan. Untuk membuktikan ada tidaknya senyawa deksametason dan prednison dari sampel dilakukan perbandingan dengan senyawa deksametason dan prednison standar, dengan cara melihat waktu retensi munculnya senyawa tersebut pada kromatogram KCKT.

Hasil :

Dari dua belas sampel jamu yang dianalisis, sampel dengan kode A1, A2, B1, B2, C1, C2, E1, E2, F1 dan F2 positif mengandung deksametason.

**Tabel 3.1 Hasil Identifikasi Senyawa Deksametason dalam Jamu yang Beredar di Pasar Tradisional Ciawi, Bogor pada Bulan Juni 2011**

No.	Kode Sampel	Senyawa yang Teridentifikasi	
		Prednison	Deksametason
1.	A1	Positif	Positif
2.	A2	Positif	Positif
3.	B1	Negatif	Positif
4.	B2	Negatif	Positif
5.	C1	Negatif	Positif
6.	C2	Negatif	Positif
7.	D1	Negatif	Negatif
8.	D2	Negatif	Negatif
9.	E1	Negatif	Positif
10.	E2	Negatif	Positif
11.	F1	Negatif	Positif
12.	F2	Negatif	Positif

**Tabel 3.2 Kandungan Deksametason dalam Jamu yang Beredar di Pasar Tradisional Ciawi, Bogor pada Bulan Juni 2011**

No.	Kode Sampel	Hasil (mg/g)
1.	A1	0,5242
2.	A2	0,5357
3.	B1	1,7764
4.	B2	1,7855
5.	C1	0,4986
6.	C2	0,4922
7.	D1	0,0000
8.	D2	0,0000
9.	E1	0,2239
10.	E2	0,2173
11.	F1	0,1854
12.	F2	0,1784

**Kesimpulan :**

Berdasarkan penelitian, ditemukan adanya senyawa deksametason pada sepuluh sampel dari dua belas sampel yang dianalisis, masing – masing sebesar 0,52 mg/g, 0,54 mg/g, 1,78 mg/g, 1,79 mg/g, 0,59 mg/g, 0,49 mg/g, 0,22 mg/g, 0,22 mg/g, 0,19 mg/g dan 0,18 mg/g. Besarnya kandungan deksametason dalam berbagai merek jamu berbeda secara nyata, sedangkan kandungan deksametason pada suatu merek obat pada waktu sampling atau nomor batch yang berbeda, tidak berbeda nyata

**Saran :**

Konsumen sebaiknya selalu berhati – hati dalam memilih jamu yang dikonsumsi khususnya jamu pegal linu, penambah stamina dan penambah nafsu makan. Salah satu cara yang bisa dilakukan konsumen adalah memeriksa keberadaan izin edar dari produsen baik izin Depkes maupun BPOM.

## 2. Artikel Kedua

Judul Artikel : Analysis BKO Content (Antalgin dan Dexamethasone) In Herbal Medicine Using Iodimetry Titration And HPLC Method

Nama Jurnal : Jurnal Sains dan Teknologi Islam

Volume & Halaman : Vol. 6, No. 1, Juni 2020

Tahun Terbit : 2020

Penerbit : Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Mataram Mataram Indonesia

Penulis Artikel : Agus Dwi Ananto, Lalu Undrus Yusditia MG ,  
Lalu Sanik Wahyu FA

### ISI ARTIKEL

Tujuan Penelitian : Adanya penyalahgunaan BKO pada sediaan herbal inilah yang menjadi alasan utama dilakukannya analisis BKO pada sediaan herbal

### Metode Penelitian

- a. Desain Penelitian : Eksperimental.
- b. Populasi dan Sampel : Sampel jamu diambil di beberapa daerah di pulau Lombok, Provinsi Nusa Tenggara Barat.
- c. Instrumen Penelitian : Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah herbal kaku, standar antalgin, standar deksametason, aquadest, metanol, asetonitril, etanol, kloroform, perak nitrat, asam klorida, larutan pati 1%, larutan iodin. Alat yang digunakan adalah HPLC,

mikropipet, timbangan analitik, plat TLC, chamber, lampu UV 254 dan 366, dan buret.

d. Metode Analisis :

- 1) Standar deksametason standar diencerkan dari 1000 ppm menjadi 5 ppm, 3 ppm, 2 ppm, 1 ppm, dan 0 ppm menggunakan pelarut etanol 25 mL. Larutan standar ini diinjeksikan ke dalam instrumen HPLC dan diukur pada panjang gelombang 254 nm untuk membentuk kurva standar deksametason.
- 2) Sampel ditimbang sebanyak 25 mg, dimasukkan ke dalam gelas takar, dan ditambahkan 25 mL ethanol. Sampel dikocok beberapa saat. 10.00  $\mu$ L sampel yang telah dikocok diinjeksikan ke dalam instrumen HPLC. Fase gerak yang digunakan dalam instrumen ini adalah asetonitril: air (7: 3). Kolom yang digunakan adalah kolom C18. Instrumen diprogram dengan waktu berjalan sekitar 5 menit pada panjang gelombang 254 nm. Kromatogram yang diperoleh dianalisis sehingga dapat diketahui kadar deksametason dalam sampel.

Hasil : Tabel 3.3 Hasil Kuantitatif Uji Antalgin Menggunakan Titration Iodimetri.

Sampel	Pengulangan	% Kadar Antalgin	Rata-rata (%)	Rentang
Standar Antalgin	1	0,5001	0,5001	0,5001 $\pm$ 0
	2	0,5001		
	3	0,5001		
Sampel B	1	0,0833	0,0694	0,0694 $\pm$ 0,024
	2	0,0833		

	3	0,0416	
	1	0,0923	
Sampel F	2	0,125	0,0968
	3	0,123	

0,0968 ±0,047

Berdasarkan tabel 3.3, sampel B merupakan sampel jamu yang tidak memiliki izin edar dari BPOM, dan sampel F memiliki izin edar dari BPOM. Secara kuantitatif, kedua sampel mengandung antalgin BKO.

Tabel 3.4 Data Kadar Deksametason dalam Sampel Menggunakan KCKT

Kode Sampel	Kadar Deksametason	% Kadar
A	0,979	0,0979
B	2,220	0,222
C	4,521	0,4521
E	5,131	0,5131
G	2,107	0,2809

Berdasarkan penelitian dari 3 sampel uji, 1 sampel positif mengandung deksametason (2,220%). Berdasarkan data yang diperoleh dalam penelitian ini, masih ditemukan penyalahgunaan penambahan BKO (antalgin dan deksametason) ke dalam sediaan jamu. Hal tersebut bertentangan dengan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 006 (2012) bahwa BKO tidak boleh ditambahkan pada sediaan herbal.

Kesimpulan :

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa masih terdapat penyalahgunaan penambahan BKO yang termasuk dalam sediaan



herbal. Hasil yang diperoleh untuk analisis kadar antalgin dari 10 sampel diperoleh 2 sampel jamu yang mengandung antalgin, masing-masing 0,0749% dan 0,1083%. Analisis kadar deksametason dari 10 sampel diperoleh 5 sampel jamu yang mengandung deksametason masing-masing 0,0979% ; 0,222% ; 0,4521% ; 0,5131%, dan 0,2809%.

### 3. Artikel Ketiga

Judul Artikel : Method Validation for Simultaneous Quantitative Analysis of Acetaminophen and Dexamethasone in Jamu Pegal Linu Using SPE-HPLC Method

Nama Jurnal : Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa

Volume & Halaman : Vol. 10 (11), 2018, 2693-2696

Tahun Terbit : 2018

Penerbit : Universitas Islam Bandung

Penulis Artikel : Hilda Aprilia Wisnuwardhani , Bertha Rusdi, Kiki Mulkiya Yulawati

#### ISI ARTIKEL

Tujuan Penelitian : Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode analisis kuantitatif pemalsuan kimiawi pada jamu pegal linu, menggunakan ekstraksi fase padat (SPE) dan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC).

## Metode Penelitian

- a. Disain Penelitian : Eksperimental.
- b. Populasi dan Sampel : Preparasi sampel menggunakan SPE OASIS HLB dengan eluen amonia 2,5% dalam metanol. HPLC dilakukan dengan menggunakan kolom C-18 sebagai fase diam, metanol: air sebagai fase gerak, tipe elusi gradien, detektor UV pada panjang gelombang 254 nm dan laju alir 1 mL / menit.
- c. Instrumen Penelitian : Sistem HPLC (Agilent Technologies, USA) dilengkapi dengan perangkat lunak Chemstations 10.02 (Agilent Technologies, USA) terdiri dari pompa pengiriman pelarut kuarterner, penghilang minyak vakum online, dan detektor UV digunakan untuk analisis kromatografi. Semua pemisahan dilakukan pada kolom Zorbax RP-18 (5.0  $\mu$ m, 300 mm  $\times$  4.6 mm, id), Agilent, USA
- d. Metode Analisis :
  - 1) Pemeriksaan mikroskopis obat mentah Sebelum digunakan sebagai matriks jamu, obat kasar dianalisis secara mikroskopis untuk mengetahui karakteristik markernya menggunakan Mikroskop Olympus DP 21.
  - 2) Persiapan untuk Jamu Pegal Linu Matriks 1,75 gram rimpang *Curcuma xanthorrhizae*, 1,75 rimpang *Curcuma domesticae* dan 1,5 gram rimpang *Zingiberis officinalis*, diaduk hingga homogen. Persiapan Standar Acetaminophen 10 mg asetaminofen ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL metanol. Volume 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8,

dan 1,0 mL larutan dipindahkan ke labu ukur 10 mL menggunakan pipet volumetrik.

- 3) Kemudian tambahkan metanol ke suatu volume untuk mencapai larutan standar dengan konsentrasi berikut 10, 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Setiap larutan standar disaring menggunakan filter PTFE 0,45  $\mu\text{m}$  sebelum disuntikkan ke sistem deteksi HPLC-UV.

- 4) Persiapan Standar Dexametason

Deksametason 10 mg ditimbang dan dilarutkan dalam 100 mL metanol. Volume 50, 100, 200, 300, 400, dan 500  $\mu\text{L}$  larutan dipindahkan ke labu ukur 10 mL menggunakan mikropipet. Kemudian tambahkan metanol ke suatu volume hingga konsentrasi akhir 0,5, 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm. Setiap larutan standar disaring menggunakan filter PTFE 0,45  $\mu\text{m}$  sebelum diperkenalkan ke sistem deteksi HPLC-UV.

- 5) Persiapan sampel

Sampel jamu sebanyak 1 gram diekstraksi dengan 8 mL asam format 2,5% dalam air. Kemudian kocok menggunakan pengocok 3D selama 15 menit. Campuran disaring, dan filtrat dikumpulkan. Aktivasi SPE OASIS HLB menggunakan 1,5 mL methanol dan 1,5 mL aquadest. Sebanyak 800  $\mu\text{L}$  ekstrak jamu dimasukkan ke dalam cartridge dan dijatuhkan secara perlahan. Kolom dicuci dengan akuades 3 mL dilanjutkan elusi menggunakan tiga kali 1 mL  $\text{NH}_4\text{OH}$  2,5% dalam metanol. Setiap larutan sampel disaring dengan

menggunakan filter PTFE 0,45  $\mu\text{m}$  sebelumnya itu disuntikkan ke HPLC.

#### Validasi Metode Analisis

##### a) Spesifisitas

Larutan matriks ekstrak jamu pegal linu dan jamu pegal linu yang mengandung deksametason diinjeksikan ke dalam HPLC. Kesamaan waktu retensi sampel dan senyawa referensi diamati.

##### b) Linearitas

Linearitas metode diuji dengan menggunakan kurva kalibrasi. Kurva ini dibuat dengan memplot enam konsentrasi referensi ke area di bawah kurva. Rentang konsentrasi referensi antara 0,5-10 ppm untuk deksametason. Pengujian ini dilakukan dalam tiga ulangan. Koefisien korelasi ( $r$ ) dan koefisien regresi linier dari varian kurva kalibrasi dihitung.

##### c) Batas Deteksi dan Kuantifikasi

Batas deteksi dan kuantifikasi diperoleh dengan menghitung deviasi standar sisa ( $S_y / x$ ) dari kurva kalibrasi.

##### d) Akurasi dan Presisi

Penentuan akurasi dan presisi parameter dilakukan dengan menggunakan matriks spiking jamu pegal linu dengan standar deksametason. Jumlah standar yang ditambahkan pada jamu pegal linu adalah 28 mg, 35 mg dan 42 mg 12 mg deksametason. Sampel berduri ini dibuat dalam tiga ulangan. Sampel berduri dianalisis

dengan prosedur preparasi sampel sebelum dianalisis dengan HPLC.

e) Presisi Antar Hari

Tes presisi antar hari dilakukan dalam 3 hari berturut-turut. Persentase deviasi standar relatif dari hasil dihitung

Hasil : Uji akurasi dan presisi menggunakan metode spiked placebo dengan tiga variasi konsentrasi analit. Akurasi file Metode analisis ditinjau dari persentase pemulihannya. *Recovery* deksametason adalah 29.847 - 33.792%, sehingga tidak memenuhi syarat validasi metode analisis dari sampel biologis yaitu antara 80-120%. Pemulihan yang rendah mungkin disebabkan oleh kelarutan deksametason yang buruk dalam pelarut yang digunakan dalam penelitian ini. Akibatnya, deksametason tidak diekstraksi sepenuhnya dari sampel.

Tabel 3.5 Akurasi Analisis Kuantitatif Deksametason dalam Jamu Pegal Linu

Konsentrasi Deksametason	Konsentrasi (ppm)	<i>Recovery</i> (%)	Rata-rata $\pm$ (SD)
53,33 ppm	30,163	30,163	29,847 $\pm$ 0,469 RSD = 1,571%
	29,818	29,818	
	29,488	29,488	
66,67 ppm	21,432	32,146	33,792 $\pm$ 1,764 RSD = 5,220%
	23,771	35,655	
	22,386	33,577	
80 ppm	24,622	30,777	30,015 $\pm$ 0,811 RSD = 2,705%
	23,329	29,161	
	24,086	30,107	

Tabel 3.6 Analitik Deksametason Presisi Antar Hari

Konsentrasi	% ( <i>Recovery</i> ) y			Rata-rata $\pm$ SD
Deksametason	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	
56,67 ppm	29.847	22.840	24.925	
			25.871 $\pm$ 3.597	RSD = 13.907%

Uji ketelitian menunjukkan hasil yang memenuhi kriteria untuk kedua analit. Standar deviasi relatif deksametason 1,571% dan 5,220%. Presisi antar hari juga memenuhi persyaratan. Standar deviasi relative deksametason adalah 13,907%.

Tabel 3.7 Persamaan Regresi, Koefisien Korelasi, LOD, dan LOQ Dexamethasone dalam Jamu Pegal Linu.

Persamaan Regresi	Deksametason		
	R	LOD (ppm)	LOQ (ppm)
$y = 350790x + 9929.9$	0,998	0,292	0,972

Hal ini ditunjukkan dengan varian koefisien regresi liniernya ( $V_{x0}$ ) yang berada di bawah 5%. ( $V_{x0}$ ) nilai deksametason 3,76%. Kalibrasi kurva deksametason dibuat dalam tiga ulangan pada hari yang sama. Semua replikasi memenuhi syarat linieritas berdasarkan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) yang lebih dari 0,99.

Kesimpulan :

Metode analisis kuantitatif deksametason yang dikembangkan memenuhi persyaratan spesifisitas, linieritas, batas deteksi, dan

kuantifikasi. Sayangnya, untuk parameter akurasi hanya analisis kuantitatif asetaminofen yang memenuhi syarat.

#### 4. Artikel Keempat

Judul Artikel : RP-HPLC Method Development For The Quantitative Determination Of Dexametasone In Herbal

Nama Jurnal : World Journal Of Pharmaceutical Research

Volume & Halaman : Vol 4, Edisi 2, 2015.

Tahun Terbit : 2015

Penerbit : Departemen Farmakognosi, Sekolah Tinggi Farmasi JSS, Universitas JSS

Penulis Artikel : Venkata Sairam K 1 , JC Thejaswini 1, MV Prudhvi Raju 1, RS Chandan 1

#### ISI ARTIKEL

Tujuan Penelitian : Untuk mengembangkan metode HPLC yang cepat dan sensitif untuk penentuan kuantitatif deksametason dalam formulasi herbal menggunakan metode HPLC yang paling umum digunakan.

#### Metode Penelitian

a. Disain Penelitian : Eksperimental.

b. Populasi dan Sampel : Penentuan kromatografi dilakukan dengan menggunakan asam orto fosfat 0,1% dan asetoniitril dengan

perbandingan 80:20 (v / v) sebagai fasa gerak dan fasa diam kolom stainless steel fenomenex-cyano kolom ( $250 \times 4,6$  mm,  $5\mu\text{m}$ ). Temperatur oven kolom dijaga pada  $40^\circ\text{C}$ . Waktu kerja kromatografi dipertahankan hingga 12,0 menit dengan laju alir 1,2 mL / menit dengan volume injeksi 10  $\mu\text{L}$  dan eluen dipantau pada 242 nm.

c. Instrumen Penelitian : Shimadzu HPLC (Sistem penanganan Solusi LC) dengan LC-2010A HT Kromatografi cair keunggulan dan detektor UV / Visible SPD-20A yang menonjol digunakan untuk penelitian ini. Selain itu, timbangan elektronik Shimadzu, dan rakitan filtrasi mikropori digunakan dalam penelitian ini.

d. Metode Analisis

1) Persiapan larutan stok

a) Persiapan larutan stok standar Deksametason (obat curah) yang ditimbang secara akurat 100,0 mg dilarutkan dalam 50,0 mL fase gerak dalam labu ukur 100 mL dan disonikasi selama lima menit sampai bahan larut dan volume dibuat dengan fase gerak. Dari 10,0 mL larutan ini diambil dan diencerkan menjadi 100 mL (larutan stok). Larutan disaring melalui kertas saring  $0,45\mu\text{m}$ .

b) Persiapan kurva kalibrasi Aliquot dexamethasone mulai dari 0,5 - 6,0 mL dipipet ke dalam rangkaian labu ukur 10 mL dan diencerkan hingga tanda dengan fase gerak. Kisaran linieritas deksametason ditemukan 5,0 - 60,0  $\mu\text{g} / \text{mL}$ . Kurva kalibrasi dibuat dengan memplot area puncak terhadap konsentrasi.



c) Pembuatan ekstrak sampel Sejumlah deksametason yang diketahui dimasukkan ke dalam obat herbal (GOUTEX ditemukan tidak mengandung deksametason dengan metode yang diusulkan). 1,25 gram bubuk sampel ditimbang dan dilarutkan secara akurat dalam 100 mL air, kemudian dilakukan sonikasi selama 20 menit dan disaring. Mark diekstraksi berulang kali dengan 100 mL air sebanyak tiga kali. Total ekstrak air adalah dikumpulkan dan diekstraksi dengan kloroform tiga kali (125 mL x 3) dan ekstrak kloroform dibuang. Akhirnya volume ekstrak air dibuat hingga 500 mL dengan air

## 2) Optimasi metode

Optimalisasi prosedur analitik dilakukan dengan memvariasikan fasa diam, komposisi fasa gerak, laju aliran fasa gerak. Dalam penelitian ini pemisahan terbaik deksametason dari gangguan dalam formulasi dicapai dengan menggunakan fase diam kolom fenomenex cyano (250mm X 4.6mm, 5 $\mu$ m) dibandingkan dengan fenomenex kolom C18 (250mm X 4.6mm, 5 $\mu$ m). Dengan kolom C18, puncak obat dielusi pada waktu retensi yang lebih rendah yang bergabung dengan puncak formulasi berbagai sistem pelarut seperti asetronitril: air, metanol: air, asam orto fosfat 0,1%: asetronitril dicoba dalam rasio yang berbeda untuk mendapatkan kromatogram yang baik. Hasil terbaik diperoleh dengan fase gerak asetronitril, asam ortofosfat 0,1% (20:80 v / v).

### 3) Validasi Metode

Metode ini divalidasi untuk parameter seperti kesesuaian sistem, spesifisitas, linieritas, batas deteksi (LOD), batas kuantifikasi (LOQ), akurasi, presisi, kekasaran, dan ketahanan sesuai dengan Pedoman Konferensi Internasional Harmonisasi (ICH).

#### a) Pengujian kesesuaian sistem

Studi kesesuaian sistem dilakukan dengan enam suntikan ulangan obat yang mengandung konsentrasi 5mcg / mL. Kesesuaian sistem metode dievaluasi dengan menganalisis faktor tailing, pelat teoritis kolom, rasio distribusi massa (faktor kapasitas), efisiensi kolom (N), HETP dan retensi relatif ditabulasikan.

#### b) Linearitas

Kurva kalibrasi dibuat dengan memplot area puncak deksametason versus konsentrasi sampel deksametason. Korelasi linier ditemukan antara area puncak dan konsentrasi deksametason dan dijelaskan dengan persamaan regresi:  $Y = 12388x + 3601$ ;  $r^2 = 0,999$ , di mana  $r^2$  adalah koefisien korelasi. Hukum Beer ditaati dalam kisaran konsentrasi 5-60  $\mu\text{g} / \text{mL}$

#### c) Akurasi (*Recovery*)

Akurasi metode dipelajari dengan eksperimen pemulihan. Pemulihan dilakukan pada tiga level 80, 100 dan 120% sesuai

garis panduan ICH. Percobaan pemulihan ini dilakukan pada tiga tingkat konsentrasi (18, 20, 22  $\mu\text{g} / \text{mL}$ ) dengan menambahkan jumlah obat murni yang diketahui ke larutan sampel herbal yang dianalisis sebelumnya (larutan sampel dengan konsentrasi yang diketahui 10  $\mu\text{g} / \text{mL}$ )

d) Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ)

LOD dan LOQ ditentukan dengan menggunakan deviasi standar dari respon dan pendekatan kemiringan sebagaimana didefinisikan dalam pedoman Konferensi Internasional tentang Harmonisasi (ICH). Batas deteksi ditemukan 129 ng dan batas kuantifikasi ditemukan 388ng.

e) Presisi

Presisi metode dievaluasi dalam hal presisi intra-hari dan antar-hari. Konsentrasi 5 $\mu\text{g} / \text{mL}$  deksametason dianalisis dalam enam ulangan pada hari yang sama (presisi intra-hari) dan dalam lima hari berturut-turut (presisi antar-hari). Nilai RSD intra-hari berdasarkan area puncak adalah 1,0%. Presisi antar hari menunjukkan nilai RSD yang lebih tinggi sebesar 1,12

f) Ketangguhan Metode (*Ruggedness*)

Ketangguhan metode diperiksa dengan memvariasikan nomor lot dan pembuatan reagen asam ortofosfat), pelarut (air kelas HPLC, asetronitril) yang diperoleh dari bahan kimia Qualigens Fine (Mumbai, India) dan kolom (fenomenex Cyano

-250 x 4,6 mm; 5  $\mu$ m). Pengaruh perubahan diamati pada parameter kromatografi seperti waktu retensi, faktor tailing, resolusi, luas puncak dan pelat teoritis. Hasil yang diperoleh tidak menunjukkan variasi yang signifikan pada parameter di atas yang menunjukkan kekasaran metode.

g) Kekuatan (*Robustness*)

Kekuatan metode analitik adalah ukuran dari kapasitasnya untuk tetap tidak terpengaruh oleh variasi kecil namun disengaja dalam parameter metode dan memberikan indikasi keandalannya selama penggunaan normal. Kekuatan dilakukan dengan sedikit memvariasikan kondisi percobaan seperti proporsi fase gerak ( $\pm 2\%$  pada proporsi total), suhu kolom ( $40^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ), laju alir (1,2 mL / menit  $\pm 0,2$  mL) dan panjang gelombang ( $242 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$ ) deteksi. Pengaruh perubahan diamati pada parameter kromatografi seperti waktu retensi, faktor *tailing*, resolusi, luas puncak dan pelat teoritis. Hasil yang diperoleh tidak menunjukkan variasi yang signifikan pada parameter di atas yang menunjukkan ketahanan metode. Penerapan metode estimasi deksametason dengan cara spiking ke dalam formulasi herbal sejumlah obat standar yang diketahui ditambahkan ke dalam formulasi herbal dan kemudian sampel diekstraksi dengan ekstraksi cair-cair (ekstraksi sampel bubuk (formulasi) dengan air diikuti dengan ekstraksi dengan

kloroform). Ekstrak air dikumpulkan dan dianalisis dalam HPLC. Puncak obat diperoleh pada waktu retensi 8,8 menit

Hasil :

Metode yang diusulkan juga divalidasi untuk variasi intra dan antar hari dan% CV ditemukan menjadi 1,0%. Tingkat penghitungan terendah diamati menjadi 388 ng / mL yang menunjukkan sensitivitas metode. Akurasi metode HPLC dinilai dengan menambahkan jumlah obat yang diketahui ke larutan sampel yang telah dianalisis sebelumnya. Jumlah deksametason yang diketahui ditambahkan ke jamu dan pemulihan keseluruhan diperkirakan dengan metode penambahan standar. % Recovery (95.67%) menunjukkan bahwa metode yang diusulkan akurat. Meskipun adanya gangguan pada jamu tidak secara nyata mengganggu identifikasi deksametason, gangguan tersebut dapat dipindahkan secara efisien dengan Liquid Liquid Extraction (LLE). Hasil kekokohan yang diperoleh menunjukkan tidak ada variasi yang signifikan pada parameter (waktu retensi, faktor tailing, resolusi, luas puncak dan pelat teoritis) yang menunjukkan kekokohan metode. Dibandingkan dengan metode lain yang diterbitkan untuk penentuan deksametason, keuntungan dari metode ini adalah kemudahan pengoperasian, waktu analisis yang singkat (total run time <12 menit

Kesimpulan :

Penting untuk mengembangkan metode yang cepat dan efisien untuk mendeteksi deksametason dalam pengobatan herbal. Dalam studi

ini kami telah mengembangkan metode yang menggabungkan LLE dan HPLC. Metode yang dikembangkan ternyata sederhana, sensitif, akurat, tepat, dan dapat direproduksi. Ini dapat digunakan untuk penentuan kuantitatif rutin deksametason sebagai adulterant dalam formulasi herbal.

#### 5. Artikel Kelima

Judul Artikel : Analisis Bahan Kimia Obat Deksametason Dalam Jamu Pegal Linu Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Nama Jurnal : Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta

Volume & Halaman : vol.3, No 1

Tahun Terbit : 2018

Penerbit : Universitas Wahid Hasyim

Penulis Artikel : Aqnes Budiarti<sup>1</sup> , Muhamad Barik Ulfa Faza<sup>1</sup>

#### ISI ARTIKEL

Tujuan Penelitian : Melakukan validasi metode penetapan kadar deksametason menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dan mengaplikasikannya pada obat tradisional pegal linu yang ditambahkan deksametason.

#### Metode Penelitian

a. Disain Penelitian : Eksperimental.

- b. Populasi dan Sampel : Sampel obat tradisional pegal linu, baku pembanding deksametason (PT. Phapros), Asam Ortofosfat pro HPLC, asetronitril, metanol pro HPLC (J.T. Baker), aquabidestilata.
- c. Instrumen Penelitian : Seperangkat KCKT (Jazco) terdiri dari pompa (PU 2080 plus), injektor manual, kolom C18 Lichrosper 100, Rp -18 (100 mm x 4,6 mm ID, 5  $\mu$ m), detektor UV (2070 plus) dan pengolah data pada komputer (ezchrom elite), spektrofotometer UV-Vis (1800 Shimadzu), syringe (Hamilton), pH meter (Handylab), timbangan analitik (Ohaus), penyaring eluen (Whatman), membran penyaring nylon 0,2  $\mu$ m (GVS), Digital Ultrasonic Cleaner (Jeken), mikropipet (Socorex).
- d. Metode Analisis
  - 1) Pembuatan Larutan Stok Deksametason
    - a) Baku pembanding deksametason ditimbang seksama sejumlah 100 mg.
    - b) Deksametason dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL.
    - c) Deksametason dilarutkan dengan fase gerak sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 1000  $\mu$ g/mL.
    - d) Larutan disonifikasi selama 5 menit, dan disaring dengan membran penyaring nylon 0,45  $\mu$ m(Sairam dkk., 2013).
  - 2) Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Optimasi panjang gelombang menggunakan spektrofotometer UV. Larutan standar deksametason konsentrasi 20 µg/mL dalam fase gerak campuran 0,1% asam ortofosfat dan asetonitril (80:20, v/v) discanning pada panjang gelombang 200-400 nm.

### 3) Optimasi Komposisi Fase Gerak

Optimasi komposisi fase gerak terdiri dari campuran 0,1% asam ortofosfat dan asetonitril dengan perbandingan (70:30; 80:20; 90:10, v/v). Selanjutnya dipilih fase gerak yang memberikan data yang optimal. Laju alir yang digunakan adalah 1,0 mL/menit (Sairam dkk., 2015).

### 4) Pembuatan Kurva Baku

- a) Larutan stok baku deksametason 1000 µg/mL dipipet 100, 200, 300, 400, dan 500 µL, masingmasing dimasukkan dalam labu takar 5 mL.
- b) Masing-masing labu takar ditambahkan fase gerak campuran 0,1% asam ortofosfat dan asetonitril (80:20 v/v) sampai tanda batas dan kocok hingga homogen sehingga diperoleh konsentrasi deksametason 20, 40, 60, 80, dan 100 µg/mL.
- c) Kemudian masing-masing larutan disaring dengan membran penyaring nylon 0,45 µm, dan diinjeksikan ke sistem KCKT dengan volume penyuntikan 20 µL dideteksi pada panjang gelombang 242 nm dengan laju alir 1,0 mL/menit.



d) Hasil yang diperoleh dari kromatogram dibuat kurva baku (kalibrasi) kemudian dihitung persamaan regresi linier dan faktor korelasinya (Sairam dkk.,2015).

## 5) Validasi

### a) Presisi (Ketelitian)

Larutan yang mengandung deksametason 100 µg/mL diinjeksikan sebanyak 20 µL ke alat KCKT pada kondisi optimum. Percobaan direplikasi sebanyak 6 kali pada. Luas area, waktu retensi dan tinggi puncak deksametason dicatat. Selanjutnya dihitung persentase koefisien variasinya (Gandjar dan Rohman, 2007)

### b) Akurasi (Ketepatan)

Uji akurasi dilakukan dengan metode penambahan baku (standard addition method) melalui uji perolehan kembali pada sampel yang ditambah baku pembanding dengan konsentrasi meliputi 80%, 100% dan 120% dari kadar deksametason dalam obat tradisional. Replikasi dilakukan masing-masing sebanyak 3 kali.

### c) Linieritas

Persamaan regresi linier yaitu  $Y = bx + a$ . Uji linieritas (Miller dan Miller, 2005):

- (1) Larutan baku deksametason dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100  $\mu\text{g/mL}$  diinjeksikan sebanyak 20  $\mu\text{L}$  ke alat KCKT.
- (2) Luas area deksametason yang diperoleh untuk tiap konsentrasi dibuat persamaan linier dan ditentukan koefisien korelasinya.
- (3) Uji linieritas dilakukan tiga kali pengulangan.
- (4) Persamaan regresi terbaik digunakan sebagai persamaan kurva baku untuk menetapkan kadar sampel.

d) Sensitivitas

Uji sensitivitas dinyatakan uji batas deteksi (LOD) dan uji batas kuantifikasi (LOQ). Semakin kecil nilai LOD dan LOQ maka semakin peka pula suatu metode (Miller dan Miller, 1988).

e) Penetapan Kadar Deksametason dalam Obat Tradisional Pegal Linu

- (1) Serbuk obat tradisional pegal linu yang ditambahkan deksametason ditimbang seksama.
- (2) Serbuk dimasukkan ke dalam labu takar 50 mL, kemudian ditambah fase gerak hingga batas tanda, selanjutnya dikocok mekanis 30 menit.
- (3) Larutan disaring dengan kertas saring Whatman 41.

- (4) Penetapan Kadar Deksametason dalam Obat Tradisional Pegal LinuLarutan disaring dengan penyaring nylon 0,45  $\mu\text{m}$  dan diinjeksikan sebanyak 20  $\mu\text{L}$  ke KCKT.
- (5) Luas puncak yang diperoleh digunakan untuk menghitung kadar berdasarkan kurva baku. 6. Penetapan kadar sampel dilakukan sebanyak enam kali pengulangan.

Hasil : Validasi metode Analisis

Tabel 3.8 Hasil Uji Presisi Penetapan Kadar Deksametason Dengan Metode KCKT

Kadar (ppm)	waktu retensi (menit)	Luas area	Kadar
10	1,353	649847	10,08
10	1,35	650562	10,11
10	1,35	650305	10,10
10	1,35	650202	10,09
10	1,35	648982	10,04
10	1,35	648638	10,03
rata-rata			10,07
SD			0,03 %
RSD			0,32%.

a. Akurasi (ketepatan)

Penambahan bahan baku deksametason 0,4 mg yang setara dengan 80% dari kadar analit target (0,5 mg) menghasilkan konsentrasi akhir 50  $\mu\text{g/mL}$ , rentang nilai perolehan kembalinya adalah 100,07-100,19%.

b. Linieritas

Persamaan regresi linier terbaik berdasarkan nilai r adalah replikasi pertama dengan nilai regresi linier  $Y = 23978,197x + 408242,6$  dengan  $r = 0,999$

c. Sensitivitas

Pada penelitian ini perhitungan LOD dan LOQ ditentukan berdasarkan persamaan garis regresi linier. Nilai LOD sebesar  $0,93\mu\text{g/mL}$  dan LOQ sebesar  $3,09\mu\text{g/mL}$

**Tabel 3.9 Hasil Uji Akurasi Penetapan Kadar Deksametason Dalam Sediaan Obat Tradisional Pegal Linu Dengan Metode KCKT**

Sampel	Luas	Kadar Deksametason (mg) dalam 7 g	Kadar
	Puncak	Sampel Obat Tradisional Pegal Linu (%)	Dexametason
1	648988	0,502	100,402
2	648759	0,502	100,306
3	647868	0,500	99,935
4	647578	0,499	99,814
5	648982	0,502	100,399
6	648638	0,501	100,256
	Rata-rata	0,501	100,185
	SD	0,001	0,250
	RSD	0,002	0,25%

Berdasarkan tabel diatas dapat diketahui kadar rata-rata deksametason dalam sediaan obat tradisional pegal linu yaitu 100,19% dengan RSD 0,25. Hasil ini menunjukkan bahwa metode

dapat diaplikasikan untuk menetapkan kadar deksametason dalam sediaan obat tradisional pegal linu.

Kesimpulan :

1. Validasi penetapan kadar deksametason dalam sediaan obat tradisional pegal linu yang ditambahkan deksametason menggunakan KCKT dengan fase diam kolom C18 (Sunfire) (150 nm x 4,6 mm), fase gerak berupa campuran asetonitril dan 0,1% asam ortofosfat (70:30, v/v) dengan laju alir 1 mL/menit, detektor UV (UV-2070 plus) pada panjang gelombang 242,5 nm dapat dilakukan.
2. Uji validasi metode penetapan kadar deksametason memenuhi persyaratan validasi yaitu: uji presisi menghasilkan %RSD 0,321%, uji akurasi menghasilkan perolehan kembali 100,19% - 100,80%, selektivitas yang baik, linieritas dengan nilai korelasinya ( $r$ ) : 0,999, dengan LOD sebesar 0,93 $\mu$ g/mL, dan LOQ sebesar 3,09 $\mu$ g/mL.
3. Metode analisis yang telah divalidasi tersebut dapat diaplikasikan pada penetapan kadar deksametason dalam sediaan obat tradisional pegal linu yang ditambahkan deksametason dengankadar rata-rata deksametason dalam obat tradisional pegal linu adalah 100,19%.